

公司产品仅供科学研究使用、不得用于临床诊断！

商品属性：

产品名称	规格	货号
血液基因组 DNA 提取系统 (0.1~20 ml) (非离心柱型)	可处理 50 ml 血液	P-PR1043

储存条件：

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存 12 个月, 更长时间的保存可置于 2-8°C。2-8°C 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在 37°C 水浴中预热 10 min, 以溶解沉淀。

产品简介：

本试剂盒采用独特的缓冲液系统, 提取 0.1-20 ml 加入各种抗凝剂的新鲜血液和冻存血液样品基因组 DNA。本缓冲液系统可最大限度去除蛋白、色素、脂类及其他抑制性杂质污染。提取的基因组 DNA 片段大, 产量高, 纯度好, 稳定可靠。本试剂盒避免使用苯酚、氯仿等有机溶剂, 回收的 DNA 可适用于各种常规操作, 如酶切、PCR、文库构建、Southern Blot 等实验。

提取得率 (根据血液样品中白细胞数量的不同, DNA 产量会有所差异)

材料	保存时间	提取量	DNA 产量	OD ₂₆₀ / OD ₂₈₀
人类全血	4°C一周	300 µl	3-10 µg	1.7 - 1.9
人类全血	4°C一周	1 ml	4-30 µg	1.7 - 1.9
人类全血	4°C一周	5 ml	100-200 µg	1.7 - 1.9
人类全血	4°C一周	10 ml	200-400 µg	1.7 - 1.9

产品特点：

量大质优：提取 0.1-20 ml 各种血液, 可获得多达 2-400 µg 高纯度 DNA。

安全可靠：无苯酚、氯仿等有机溶剂的污染。

价廉物美：与同类产品相较, 性价比高, 纯化得到的 DNA 样品可长期保存。

注意事项：请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 血液样品反复冻融, 会导致提取的 DNA 片段较小、且提取量下降。所得基因组 DNA 也应尽可能避免反复冻融, 以免断裂。

2. 血液样品的储存：

a) 短期保存：已加入抗凝剂的血液样品可在 2-8°C 储存最多 10 天, 对于某些实验例如 Southern Blot 等, 需要得到完整全长的基因组 DNA, 请将血液样品在 2-8°C 储存不超过 3 天, 此时基因组 DNA 的降解程度较轻。

b) 长期保存：已加入抗凝剂的血液请置于 -70°C 保存 (如果提取的是高分子量的 DNA, 推荐使用 EDTA 作为抗凝剂)

3. 所有离心操作均可在室温下完成。

一、小体积全血操作流程 (<600 µl 血样; 以 300 µl 血液处理量为例)

1. 向 300 µl 抗凝剂的血液中加入 750 µl 细胞裂解液 CLA, 颠倒混匀 20 次。

注意：为方便与离心机配套使用, 可加入与血液等体积的细胞裂解液 CLA, 重复裂解两次。

2. 12,000 rpm (~13,400×g), 离心 1 min。倒弃上清, 将离心管倒置在干净的吸水

纸上停留 2 min, 确保沉淀在管中 (此步骤应小心操作, 为避免沉淀被倒出, 推荐使用尖底离心管)。

注意：在极少的情况下沉淀可能会很松弛, 所以要缓慢倒上清, 将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁上清的回流。

3. 按照表 1 配制缓冲液 FGA 与 Proteinase K 的混合液。

注意：此混合液最好现用现配, 并在配好后 1 h 之内用完。

4. 加入 200 µl 缓冲液 FGA 与 Proteinase K 的混合液, 立即上下剧烈震荡或涡旋混匀至溶液无团块。

注意：当处理多个样品时, 加入缓冲液 FGA 和 Proteinase K 的混合液后要立刻涡旋混匀, 不要等所有的样品加完后再混匀。有可能出现大量的胶状沉淀难以混匀, 此时可再次补加缓冲液 FGA 和 Proteinase K 的混合液 (具体补加量见表 1), 再次涡旋混匀。

5. 65°C 水浴 10 min, 其间颠倒混匀数次。

6.加入 200 μ l 异丙醇，上下颠倒混匀 50 次至出现丝状或簇状基因组 DNA。

注意：与异丙醇完全混合对于沉淀 DNA 非常重要，应该仔细观察。

7.12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)，离心 5 min，倒弃上清。将离心管倒置在干净的吸水纸上，确保沉淀在管中。

注意：在极少的情況下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清。如果样品的白细胞数量足够多，可以看到白色的 DNA 沉淀。

8.加入 300 μ l 70%乙醇，涡旋振荡 5 sec，12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)，离心 2 min，倒弃上清。

9.将离心管倒置在干净的吸水纸上停留至少 5 min，确保沉淀在管中。

注意：在极少的情況下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清，将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁上清的回流。

10.空气干燥 DNA 沉淀直至所有的液体挥发干净（至少 5 min）。

注意：乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。但是要避免过分干燥 DNA 沉淀，因为过于干燥的 DNA 很难溶解。

11.加入 200 μ l 缓冲液 TB，低速涡旋 5 sec，65 $^{\circ}$ C 加热 20 min 溶解 DNA，其间轻弹数次助溶。

注意：如有难溶性物质存在，可将 65 $^{\circ}$ C 孵育时间延长至 1h。

二、中量全血操作流程（1-10 ml 血样；以 5 ml 血液处理量为例）

1.向 5 ml 含抗凝剂的血液中加入 5 ml 细胞裂解液 CLA，颠倒混匀 20 次，3,600rpm(\sim 2,000 \times g)离心 2 min，倒弃上清；

2.再向其中加入 7.5 ml 细胞裂解液 CLA，颠倒混匀 20 次，3,600 rpm(\sim 2,000 \times g)离心 2 min。倒弃上清，将离心管倒置在干净的吸水纸上停留 2 min，确保沉淀在管中（此步骤应小心操作，为避免沉淀被倒出，推荐使用尖底离心管）。

注意：在极少的情況下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清，将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁上清的回流。

3.按照表 1 配制缓冲液 FGA 与 Proteinase K 的混合液。

注意：此混合液最好现用现配，并在配好后 1 h 之内用完。

4.加入 3.3 ml 缓冲液 FGA 与 Proteinase K 的混合液，立即上下剧烈震荡或涡旋混匀至溶液无团块。

注意：当处理多个样品时，加入缓冲液 FGA 和 Proteinase K 的混合液后要立即上下剧烈震荡或涡旋混匀，不要等所有的样品加完后再混匀。有可能出现大量的胶状沉淀难以混匀，此时可再次补加缓冲液 FGA 与 Proteinase K 的混合液（具体补加量见表 1），再次涡旋混匀。

5.65 $^{\circ}$ C 水浴 10-30 min，其间颠倒混匀数次。

6.加入 3.3ml 异丙醇，上下颠倒混匀 50 次至出现丝状或簇状基因组 DNA。

注意：与异丙醇完全混合对于沉淀 DNA 非常重要，应该仔细观察。

7.3,600 rpm(\sim 2,000 \times g)，离心 8 min，倒弃上清。将离心管倒置在干净的吸水纸上，确保沉淀在管中。

注意：在极少的情況下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清。如果样品的白细胞数量足够多，可以看到白色的 DNA 沉淀。

8.加入 5 ml 70%乙醇，涡旋振荡 5 sec，3,600 rpm(\sim 2,000 \times g)，离心 3 min，倒弃上清。

9.将离心管倒置在干净的吸水纸上停留至少 5 min，确保沉淀在管中。

注意：在极少的情況下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清，将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁上清的回流。

10.空气干燥 DNA 沉淀直至所有的液体挥发干净（至少 5 min）。

注意：乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。但是要避免过分干燥 DNA 沉淀，因为过于干燥的 DNA 很难溶解。

11.加入 500 μ l 缓冲液 TB，低速涡旋 5 sec，